

Beitrag zur Konstitutionsermittlung des Bufotalinins

Teildruck der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Basel

von

HERBERT SCHRÖTER

aus Nürnberg

Basel

Buchdruckerei Birkhäuser AG.

1958



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546715_0132

Beitrag zur Konstitutionsermittlung des Bufotalinins

Teildruck der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HERBERT SCHRÖTER

aus Nürnberg



Basel

Buchdruckerei Birkhäuser AG.

1958

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
auf Antrag der Herren Professoren *T. Reichstein* und *H. Erlenmeyer*.

Basel, den 19. November 1957.

W. Becker,
Dekan

Herrn *Herbert Schröter* wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 19. November 1957 erlaubt, diesen Teildruck seiner am 19. November 1957 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

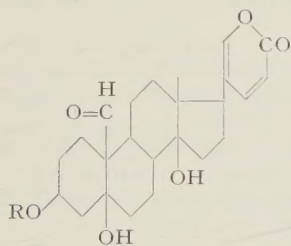
«*Zur Konstitution des Bufotalinins*»

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. in der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

90. Beitrag zur Konstitutionsermittlung des Bufotalinins

Bufotalinin ist erstmals in kleiner Menge von *Wieland* und Mitarb.³⁾ aus dem Sekret der europäischen Erdkröte *Bufo bufo bufo* (L.) isoliert worden. Aus gleichem Material wurde es auch von *Urscheler* und Mitarb.⁴⁾ erhalten. Auf papierchromatographischem Wege konnten wir es wahrscheinlich machen⁵⁾, dass Bufotalinin das Hauptbufogenin des Sekrets von *Bufo regularis* Reuss darstellt. Es ist jedoch nicht mit dem von *Chen & Chen*⁶⁾ erstmals aus solchem Material isolierten Regularobufagin identisch. Wir vermuten daher, dass es auch nicht mit dem von *Jensen*⁷⁾ beschriebenen Präparat identisch ist. Auf Grund der chemischen und biologischen Eigenschaften vermuteten *Urscheler* und Mitarb.⁴⁾, dass Bufotalinin ein 19-Oxo-Derivat des Marinobufagins sein könnte. Für letzteres haben *Pataki & Meyer*⁸⁾ die gut begründete, hypothetische

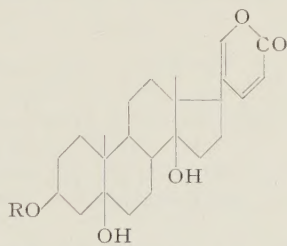


I (R = H) Hellebrigenin

= Bufotalidin

F. 236–239° [+ 17,8 An]⁹⁾³⁾¹⁰⁾¹¹⁾

II (R = Ac) F. 242–247° [+ 33,7 Chf]¹⁰⁾¹¹⁾

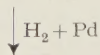


III (R = H) Telocinobufagin

F. 160°/210° [+ 4,4 Chf]¹²⁾¹³⁾

IV (R = Ac) F. 275–281°

[+ 22,9 Chf]¹²⁾¹³⁾



³⁾ H. Wieland, G. Hesse & R. Hüttel, Liebigs Ann. Chem. **524**, 203 (1936).

⁴⁾ H. R. Urscheler, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **38**, 883 (1955).

⁵⁾ H. Schröter, Ch. Tamm, T. Reichstein & V. Deulofeu, Helv. **41**, 140 (1958).

⁶⁾ K. K. Chen & A. L. Chen, J. Pharmacol. exp. Therap. **49**, 503 (1933).

⁷⁾ H. Jensen, J. Amer. chem. Soc. **57**, 1765 (1935).

⁸⁾ S. Pataki & K. Meyer, Helv. **38**, 1631 (1955).

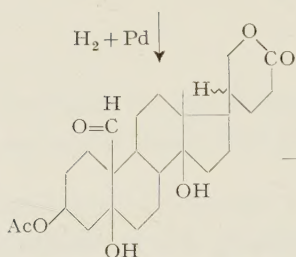
⁹⁾ H. Wieland & G. Hesse, Liebigs Ann. Chem. **517**, 22 (1935).

¹⁰⁾ J. Schmutz, Pharmac. Acta Helv. **22**, 373 (1947).

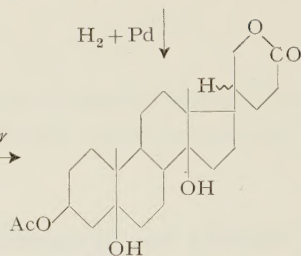
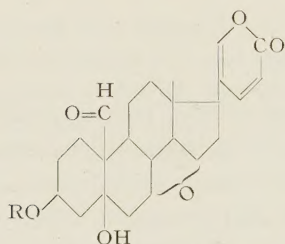
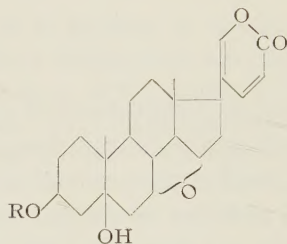
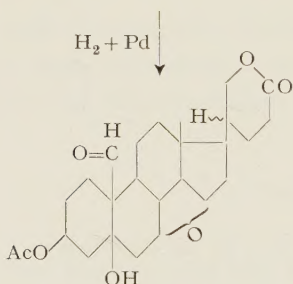
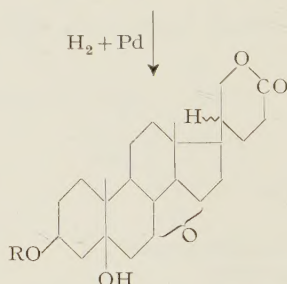
¹¹⁾ J. Schmutz, Helv. **32**, 1442 (1949).

¹²⁾ K. Meyer, Pharmac. Acta Helv. **24**, 222 (1949).

¹³⁾ K. Meyer, Helv. **32**, 1593 (1949).

V F. 177–180° [$+42,7$ Chf]^{*)14)}

Wolff-Kishner
etc.

VI F. 213–228° [$+32,4$ Chf]¹⁴⁾VII (R = H) Bufotalinin¹⁵⁾F. 233° [$+14,1$ 80-proz. Al]³⁾F. 195–201° [$+19,2$ Chf]⁴⁾VIII (R = Ac) F. 247° [$+30,6$ Chf]³⁾⁴⁾IX (R = H) Marinobufagin^{16)–25)8)}F. 205–214°¹⁸⁾. F. 224°²⁵⁾[$+11,0$ Chf]¹⁷⁾; [$+8,1$ Chf]²⁶⁾X (R = Ac)¹⁸⁾¹⁹⁾²³⁾²⁴⁾F. 194–220° [$+25,7$ Chf]²⁵⁾⁸⁾XI F. 192–220° [$+49,3$ Chf]¹⁴⁾

XII (R = H)

a) F. 225–227°²¹⁾F. 215–231° [$+38$ Chf]⁸⁾F. 212–222° [$+39,7$ Chf]¹⁴⁾b) F. 212–213°¹⁹⁾²¹⁾;207–210° [$+32$ Chf]⁸⁾

XIII (R = Ac) F. 194–209°

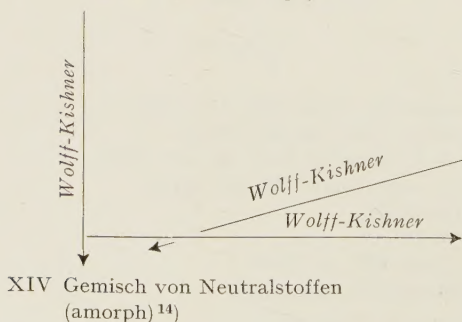
[$+47,5$ Chf]¹⁴⁾

↓ Wolff-Kishner

XV Krist. Säure F. 259–266°

[$-17,2$ Chf]¹⁴⁾

XVI Krist. Methylester F. 174–180°

[$-4,1$ Chf]¹⁴⁾

*) Anmerkungen siehe Seite 722.

Teilformel IX mit einem Oxydring an unbekannter Stelle²⁷⁾ aufgestellt, in der aber das C-Gerüst noch nicht bewiesen ist. Nach der oben genannten Vermutung sollte Bufotalinin dann die Teilformel VII besitzen. Durch die hier beschriebenen Umsetzungen haben wir versucht, dies zu beweisen.

Da es bisher nicht gelang, eine grössere Menge Sekret von *Bufo regularis* zu erhalten, haben wir Bufotalinin nochmals aus dem Sekret von *Bufo bufo bufo* isoliert. Dies war nur möglich, weil uns die Herren Dr. *Raymond-Hamet* und Dr. *P. Lelogeais*, Paris, in grosszügiger Weise nochmals 100 g trockenes reines Sekret für diesen Zweck überlassen haben²⁹⁾. Das Material enthält ca. 1% Bufotalinin. Nach der von *Urscheler* und Mitarb.⁴⁾ beschriebenen Methode konnten wir 0,5 g reine Kristalle aus 95 g Trockensekret isolieren. Um die eingangs erwähnte Hypothese zu beweisen, musste die Aldehydgruppe des Bufotalinins zur Methylgruppe reduziert werden.

In der Digitalis-Strophanthus-Gruppe³⁰⁾ gelang die analoge Überführung von Strophanthidin (XVII) in Periplogenin (XIX)³¹⁾ sowie von Adonitoxigenin in Gitoxigenin³²⁾ durch Umsetzung mit Äthandithiol nach *Hauptmann*³³⁾ und anschliessende Entschwefelung mit *Raney-Nickel* nach *Mozingo*³⁴⁾, doch waren die Ausbeuten in beiden Fällen schlecht. Um zu entscheiden, ob Versuche zur direkten Überführung von VII in IX Aussicht auf Erfolg haben, machten wir noch einige Vorversuche mit Strophanthidin (XVII) und Hellebrigenin (I). Zunächst wurde die Umsetzung mit Propan-dithiol-(1,3)³⁵⁾ versucht, die bei Steroiden oft bessere Ausbeuten liefert³⁶⁾ als die mit Äthandi-

¹⁴⁾ Exp. Teil dieser Arbeit.

¹⁵⁾ Hypothetische Formel nach *Urscheler* und Mitarb.⁴⁾.

¹⁶⁾ Hypothetische Formel nach *Pataki & Meyer*⁸⁾.

¹⁷⁾ *J. J. Abel & D. I. Macht*, J. Pharmacol. exp. Therap. **3**, 319 (1911/12).

¹⁸⁾ *H. Jensen & K. K. Chen*, J. biol. Chemistry **87**, 755 (1930).

¹⁹⁾ *H. Jensen & E. A. Evans jr.*, J. biol. Chemistry **104**, 307 (1934).

²⁰⁾ *R. Tschesche & H. A. Offe*, Ber. deutsch. chem. Ges. **69**, 2361 (1936).

²¹⁾ *H. Jensen*, J. Amer. chem. Soc. **59**, 767 (1937).

²²⁾ *K. H. Slotta & K. Neisser*, Mem. Inst. Butantan (São Paulo) **11**, 89 (1937).

²³⁾ *V. Deulofeu & J. R. Mendive*, Liebigs Ann. Chem. **534**, 288 (1938).

²⁴⁾ *V. Deulofeu, E. Duprat & R. Labriola*, Nature **145**, 671 (1940).

²⁵⁾ *K. Meyer*, Helv. **34**, 2147 (1951).

²⁶⁾ Siehe Fussnote 13, p. 16, bei *Pataki & Meyer*⁸⁾.

²⁷⁾ Auf Grund neuer Resultate von *Meyer & Linde*²⁸⁾ am Resibufogenin besteht die Möglichkeit, dass es sich um einen 14 β ,15 β -Epoxyd-Ring handelt. Die IR.-Spektren (vgl. Fig. 2a–4a) wären mit einer solchen Annahme gut vereinbar.

²⁸⁾ *K. Meyer & H. Linde*, vgl. spätere Mitteilung.

²⁹⁾ Wir möchten den genannten Herren auch hier für dieses wertvolle Material unseren besten Dank aussprechen.

³⁰⁾ Genine mit Butenolid-Ring.

³¹⁾ *P. Speiser & T. Reichstein*, Helv. **32**, 1368 (1949).

³²⁾ *R. Tschesche & R. Petersen*, Chem. Ber. **86**, 574 (1953).

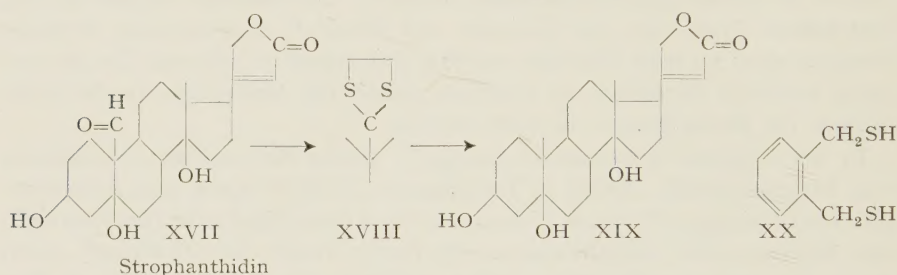
³³⁾ *H. Hauptmann*, Anais assoc. quim. Brasil **3**, 231 (1944); Chem. Abstr. **40**, 569 (1946).

³⁴⁾ *B. Mozingo, D. E. Wolf, S. A. Harris & K. Folkers*, J. Amer. chem. Soc. **65**, 1013 (1943).

³⁵⁾ *W. Autenrieth & K. Wolff*, Ber. deutsch. chem. Ges. **32**, 1368 (1899).

³⁶⁾ *J. C. Sheehan, R. A. Coderre & P. A. Cruickshank*, J. Amer. chem. Soc. **75**, 6231 (1953).

thiol. 3-O-Acetyl-strophanthidin gab damit ein S-haltiges amorphes Material, aus dem nach Entschwefelung und Acetylierung im besten Fall 10% 3-O-Acetyl-periplogenin isolierbar waren. Beim analogen Versuch mit 3-O-Acetyl-hellebrigenin (II) waren die Resultate noch schlechter, es konnte gar kein reines IV gefasst werden. Wir haben hierauf noch o-Xylylen-dimercaptan (XX)³⁷⁾ versucht³⁸⁾, das selbst kristallisiert und das mit Benzaldehyd ein gut krist. cyclisches Mercaptal liefert³⁷⁾. Mit Strophanthidin konnte unter den angewandten Bedingungen jedoch keine Umsetzung erzielt werden³⁹⁾.



Für die Verknüpfung von Bufotalinin mit Marinobufagin haben wir daher einen Weg über die Tetrahydroderivate gewählt. *Plattner* und Mitarb.⁴⁰⁾ haben gezeigt, dass Dihydro-strophanthidin nach *Wolff-Kishner* in guter Ausbeute zu Dihydro-periplogenin reduziert werden kann⁴¹⁾. Um zu prüfen, ob die Reaktionsfolge auch bei Bufadienoliden brauchbar ist, haben wir sie zuerst am Hellebrigenin (I) ausprobiert. Dazu waren für die Hydrierung geeignete Bedingungen zu verwenden, da Bufadienolide dabei bekanntlich Gemische liefern.

Nach *Wieland* und Mitarb.⁴²⁾ ist der Erfolg oft in unkontrollierbarer Weise von der Natur des Katalysators abhängig. Aus dem Anhydrierungsprodukt von Bufotalin erhielten sie mit Pd in Eisessig schliesslich reproduzierbare Ergebnisse (60% neutrale und 40% durch Hydrogenolyse gebildete saure Anteile). PtO₂ in Eisessig gab unter scheinbar gleichen Bedingungen sehr wechselnde Resultate. Nach *Wieland & Behringer*⁴³⁾ entsteht aus Bufotalin mit Pd in Alkohol bei geeigneter Wahl der Bedingungen *keine* Säure, sie erhielten so die zwei isomeren Tetrahydroderivate⁴⁴⁾. *Jensen & Evans*¹⁹⁾ sowie *Jensen*²¹⁾ hydrierten Marinobufagin ebenfalls mit Pd in Alkohol und erhielten saure und neutrale Anteile (Mengen nicht angegeben). *Jensen*²¹⁾ trennte die letzteren in

³⁷⁾ *W. Autenrieth & R. Hennings*, Ber. deutsch. chem. Ges. **34**, 1772 (1901).

³⁸⁾ Schwefel neigt bekanntlich zur Bildung grosser Ringe.

³⁹⁾ Bei einigen 12-Ketosteroiden konnte das Reagens inzwischen mit Erfolg benützt werden, vgl. Diss. *R. Jungmann*, Basel, 1958.

⁴⁰⁾ *Pl. A. Plattner, A. Segre & O. Ernst*, Helv. **30**, 1432 (1947).

⁴¹⁾ Dies ist möglich, weil Dihydro-periplogenin bis auf die reversible Öffnung des Lactonrings gegen Alkali beständig ist.

⁴²⁾ *H. Wieland, G. Hesse & H. Meyer*, Liebigs Ann. Chem. **493**, 272 (1932).

⁴³⁾ *H. Wieland & H. Behringer*, Liebigs Ann. Chem. **549**, 209 (1941).

⁴⁴⁾ Bezeichnet als α -Derivat (Smp. 202–203°) und β -Derivat (Smp. 194–195°).

die 2 Isomeren⁴⁵⁾. *Stoll* und Mitarb.⁴⁶⁾47) erhielten bei der Hydrierung von Scillaren A mit Pt in Eisessig 43% gesättigte neutrale Anteile (Lactone) und 52% Säuren (Gemisch von α - und β -Scillansäure). *Meyer & Pataki*⁸⁾ erhielten aus Marinobufagin mit Pt in Eisessig 40% saure und 60% neutrale Anteile und aus letzteren die zwei krist. Tetrahydro-marinobufagine a und b, die vermutlich mit den zwei Isomeren von *Jensen* identisch waren.

Auf Grund dieser Befunde und weil wir die Hydrogenolyse möglichst vermeiden wollten, haben wir die Hydrierung der Bufogenine mit Pd-Kohle in Alkohol durchgeführt. Die Hydrogenolyse war dabei sehr gering, es entstanden nur ca. 1–15% saure Anteile. Die neutralen Rohprodukte dürrten, wie in anderen untersuchten Fällen, jeweils wechselnde Mengen von 2 Raumisomeren enthalten haben. Wir vermuten, dass eines davon überwog, denn durch direkte Kristallisation konnten daraus jeweils zwischen 50 und 80% Tetrahydro-bufogenine isoliert werden, die einen recht einheitlichen Eindruck machten⁴⁸⁾. Da diese Präparate für unsere Zwecke genügten, haben wir auf die Untersuchung der Mutterlaugen vorläufig verzichtet. Die Hydrierungen wurden in der Regel mit den 3-O-Acetyl-bufogeninen durchgeführt. Im Falle des Marinobufagins (IX) hydrierten wir auch das freie Genin. Das als Hauptprodukt erhaltene krist. 20 ξ -Tetrahydro-marinobufagin (XII) gab im Papierchromatogramm (Nr. 3 in Fig. 5) nur einen Fleck. Es war nach Smp. und Drehung vermutlich wieder identisch mit dem α -«Hexahydro-marinobufagin» von *Jensen*²¹⁾ und dem Isomeren a von *Pataki & Meyer*⁸⁾. Bei der Acetylierung lieferte es ein krist. 3-O-Acetyl-derivat XIII. Letzteres war identisch mit dem Präparat, das bei der Hydrierung von X resultierte⁴⁹⁾. Insgesamt haben wir die 5 Stoffe V, VI, XI, XII und XIII so bereitet. In diesen 20 ξ -Tetrahydro-Derivaten ist die starke Absorption des Hexadienolid-Ringes im UV. verschwunden. In den Kurven von V und XI (siehe Fig. 1) ist daher die sonst verdeckte Absorption der Aldehydgruppe deutlich sichtbar, während VI erwartungsgemäss keine solche Bande zeigt. In den Fig. 2–4 sind die IR.-Absorptionsspektren von V, XI und XIII in Dichlormethan wiedergegeben. Alle 3 Stoffe zeigen die starke Absorption der Acetylgruppe bei 5,74 μ . Bei V und XI macht sich ausserdem die Aldehydgruppe durch eine Schulter bei 5,80 μ bemerkbar, die erwartungsgemäss bei XIII fehlt. XI zeigte genau wie XIII bei 2,79 μ eine scharfe HO-Bande, die von der tertiären HO-Gruppe herrührt. In den Spektren von XI

⁴⁵⁾ Von ihm als α -Hexahydro-marinobufagin (Smp. 212–213°) und β -Hexahydro-marinobufagin (Smp. 225–227°) bezeichnet. Keine Drehungsangaben.

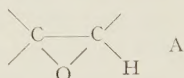
⁴⁶⁾ *A. Stoll, A. Hofmann & A. Helfenstein*, *Helv.* **18**, 644 (1935).

⁴⁷⁾ *A. Stoll & J. Renz*, *Helv.* **24**, 1380 (1941).

⁴⁸⁾ Die Kristalle gaben im Papierchromatogramm jeweils entweder nur einen Fleck oder einen starken Hauptfleck und daneben einen äusserst schwachen zweiten Fleck mit kürzerer Laufstrecke. Relativ viel eines zweiten Isomeren scheint besonders bei der Hydrierung von Marinobufagin zu entstehen, denn die Ausbeute an scheinbar einheitlichen Kristallen betrug nur ca. 50%.

⁴⁹⁾ Es war nach Smp. und Drehung aber verschieden von dem Präparat (Smp. 173–176°, $[\alpha]_D^{16} = +26,9^\circ$ in Chf, das *Pataki & Meyer*⁸⁾ in kleiner Menge bei der Hydrierung von 3-O-Acetyl-marinobufagin (X) mit Pt in Eisessig erhielten.

und XIII war bei ca. $3,31\ \mu$ noch eine schwache Bande oder Schulter erkennbar, die bei V fehlt. Wir vermuteten, es könne sich um die CH-Schwingung einer



Epoxy-Gruppe vom Typus A⁵⁰⁾ handeln. Die Spektren dieser 3 Stoffe wurden daher nochmals mit CaF_2 -Prisma und höherer Konzentration aufgenommen

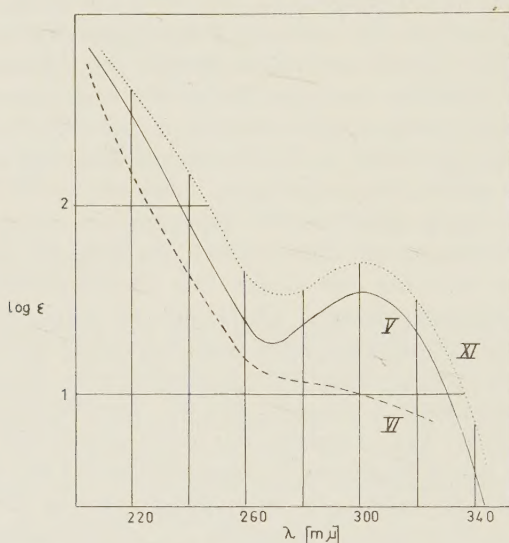


Fig. 1.

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol⁵¹⁾.

- XI = 3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-bufotalinin (XI), Maximum bei $301\ \text{m}\mu$, $\log \epsilon = 1,68$, ber. auf $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{O}_7 = 460,54$.
 V = 3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-hellebrigenin (V), Maximum bei $302\ \text{m}\mu$, $\log \epsilon = 1,50$, ber. auf $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_7 = 462,55$.
 VI = 3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-telocinobufagin (VI), bereitet aus V durch *Wolff-Kishner*-Reduktion und Reacetylierung. Kein Maximum. Ber. auf $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_6 = 448,58$.

(vgl. Fig. 2a–4a). Dabei ist die Bande bei ca. $3,315\ \mu$ in XI und XIII eindeutig feststellbar (besonders deutlich in Fig. 3a mit XI in KBr, schwächer in Fig. 4a mit XIII in CCl_4), während sie bei V völlig fehlt. Da V, wenn unsere Formelvorschläge stimmen, ausser dem Epoxyd-Ring sämtliche Gruppen enthält, die auch in XI vorhanden sind (vgl. die folgenden Resultate), glauben wir, dass die Bande bei $3,315\ \mu$ von der Epoxy-Gruppe herrührt, und dass es sich somit um eine Äthylenoxyd-Gruppe A handelt, die sich aus Analogiegründen mit Befunden von *Meyer & Linde*²⁸⁾ in 14β – 15β -Stellung befinden könnte.

⁵⁰⁾ H. Henbest, G. D. Meakins, D. Nicholls & K. J. Taylor, J. chem. Soc. **1957**, 1459.

⁵¹⁾ Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller in einem Unicam-SP-500 Spektrophotometer mit zusätzlichem Sekundär-Elektronen-Vervielfacher I.P. 28.

Reduktion nach Wolff-Kishner. Als Vorversuch haben wir zunächst 3-O-Acetyl-tetrahydro-hellebrigenin (V) mit Hydrazinhydrat und Na-Äthylat in Äthanol auf 140° erhitzt. Die Aufarbeitung gab nur Spuren Neutralstoffe, aber nach Ansäuern 72% rohe Lactone und 12% saure Anteile. Letztere kristallisierten nicht. Die Lactone wurden acetyliert und lieferten krist. 3-O-Acetyl-20ξ-tetrahydro-telocinobufagin (VI), das nach Smp., Mischprobe und Papier-

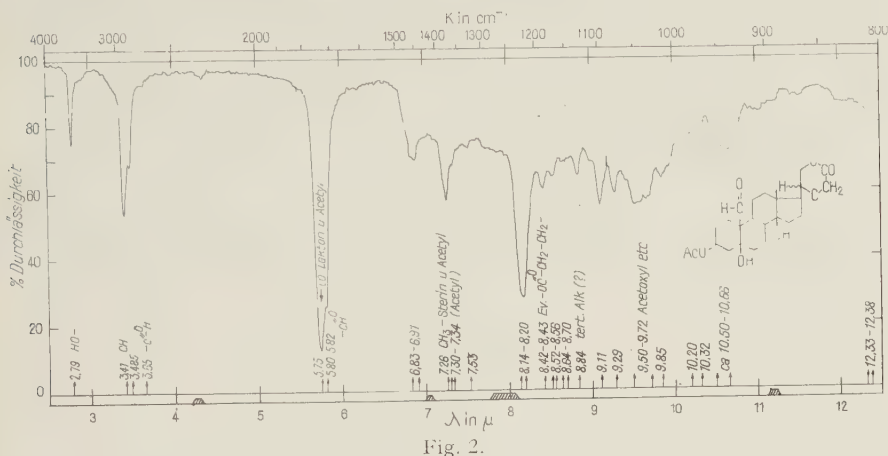


Fig. 2.

IR.-Absorptionsspektrum von 3-O-Acetyl-20ξ-tetrahydro-hellebrigenin (V) in Dichlormethan⁵²⁾.
c = 0,051 Mol/l; d = 0,206 mm.

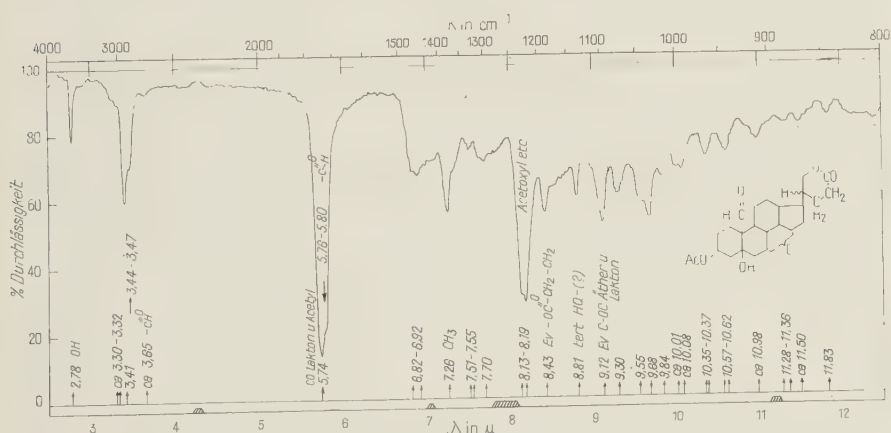


Fig. 3.

IR.-Absorptionsspektrum von 3-O-Acetyl-20ξ-tetrahydro-bufotalinin (XI) in Dichlormethan⁵²⁾.
c = 0,048 Mol/l; d = 0,2 mm.

⁵²⁾ Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller in einem Perkin-Elmer-IR.-Spektrophotometer, Modell 21 mit NaCl-Prisma. Die in den Figuren 2, 3 und 4 angegebenen Wellenlängen sind (wegen eines Kalibrierungsfehlers im Papierraster, der leider erst zu spät entdeckt wurde) etwas zu lang. Die Skala stimmt bei 2,5 μ genau, dann ist ein arithmetisch zunehmender Betrag abzuzählen, bei 8 μ beträgt er 0,02 μ und bei 12 μ bereits 0,04 μ.

chromatogramm mit dem aus III durch Hydrierung gewonnenen Präparat identisch war. Die Ausbeute an reinen Kristallen betrug 50% des eingesetzten V.

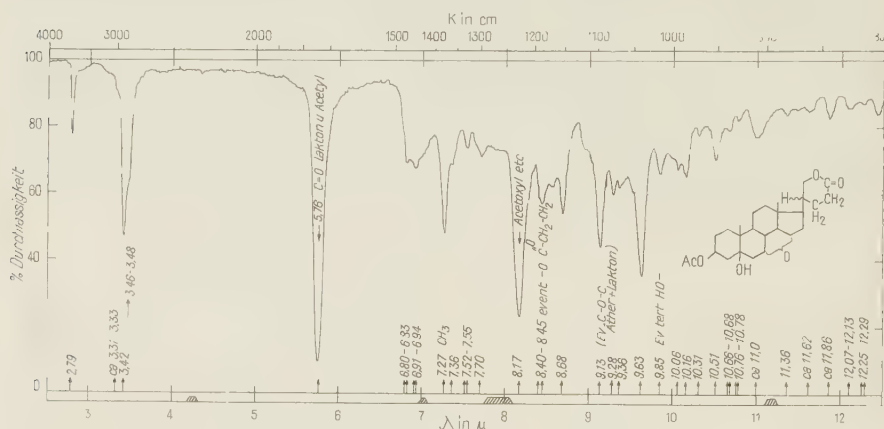


Fig. 4.

IR-Absorptionsspektrum von 3-O-Acetyl-20ξ-tetrahydro-marinobufagin (XIII) in Dichlormethan⁵²⁾.

$c = 0,056 \text{ Mol/l}$; $d = 0,206 \text{ mm}$.

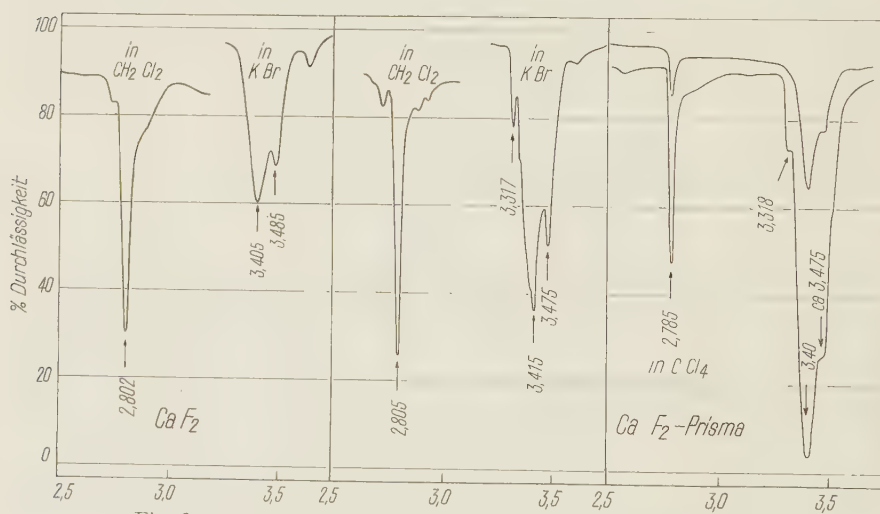


Fig. 2a.

Fig. 3a.

Fig. 4a.

IR-Absorptionsspektren aufgenommen mit CaF_2 -Prisma⁵³⁾.

Fig. 2a. 3-O-Acetyl-20ξ-tetrahydro-hellebrigenin (V) in CH_2Cl_2 , $c = 0,0304 \text{ Mol/l}$, $d = 0,208$ und $1,0 \text{ mm}$, und in KBr Dicke ca. $1,2 \text{ mm}$.

Fig. 3a. 3-O-Acetyl-20ξ-tetrahydro-bufotalinin (XI) in CH_2Cl_2 , $c = 0,0292 \text{ Mol/l}$, $d = 0,208$ und 1 mm , und in KBr Dicke ca. $1,3 \text{ mm}$.

Fig. 4a. 3-O-Acetyl-20ξ-tetrahydro-marinobufagin (XIII) in CCl_4 , $c = 0,0358 \text{ Mol/l}$, $d = 0,208$ und 1 mm .

⁵³⁾ Aufgenommen von Herrn K. Stich, mit einem Perkin-Elmer-IR.-Spektrophotometer, Modell 21.

Bevor wir die geringe uns zur Verfügung stehende Menge von XI einsetzten, mussten wir uns noch vergewissern, ob Tetrahydro-marinobufagin (XII) bis auf die reversible Öffnung des Lactonringes unter den Bedingungen der *Wolff-Kishner*-Reduktion beständig ist. Dies war nicht der Fall. Beim Erhitzen des Acetylderivates XIII mit Hydrazinhydrat und Na-Äthylat unter den oben genannten Bedingungen erhielten wir 44% saure Anteile und nur 17% Lactone. Letztere kristallisierten nicht. Im Papierchromatogramm (Nr. 2 in Fig. 5) gaben sie 5 Flecke, von denen keiner mit demjenigen von XII (Nr. 3 in Fig. 5) identisch war. Von diesen 5 Flecken waren die zwei am schnellsten laufenden am stärksten. Durch präparative Papierchromatographie⁵⁴⁾ gelang es, das Material des schnellsten Fleckes in papierchromatographisch reiner Form zu isolieren und das Material des zweiten Fleckes in nahezu reiner Form (je ca. 4 mg aus 29 mg Gemisch). Keines dieser beiden Konzentrate kristallisierte. Eine Probe des ursprünglichen Gemisches wurde auch noch acetyliert. Auch dieses acetylierte Material gab wieder 5 deutliche Flecke im Papierchromatogramm.

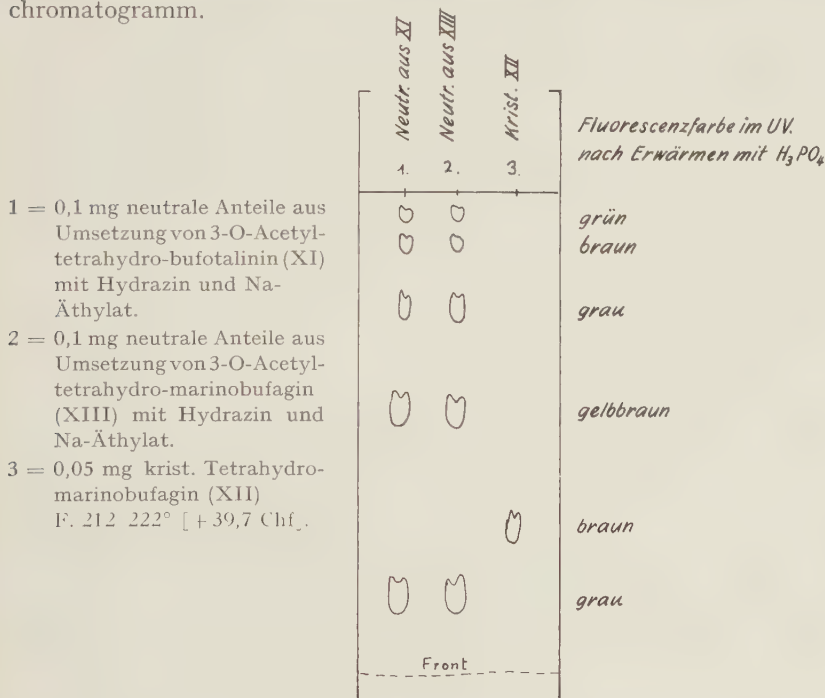


Fig. 5.

Papierchromatogramm im System Be-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1)⁵⁵⁾. Laufzeit 3,5 Std. bei 22°. Entwickelt mit H₃PO₄⁵⁶⁾ (Durchziehen durch wässrige 15-proz. H₃PO₄ und anschliessendes Erhitzen (20 Min. auf 90°). Die Flecken waren nur im UV.-Licht deutlich erkennbar.

⁵⁴⁾ Ausführung nach E. v. Arx & R. Neher, *Helv.* **39**, 1664 (1956). Es wurde hier das System Be-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1) verwendet⁵⁵⁾.

⁵⁵⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel etc. siehe Einleitung zum Exp. Teil.

⁵⁶⁾ R. Neher & A. Wettstein, *Helv.* **34**, 2278 (1951).

Bessere Resultate gaben die sauren Anteile. Aus diesen liess sich nahezu die Hälfte durch direkte Kristallisation als gut krist. Säure XV fassen und durch einen ebenfalls gut krist. Methylester XVI charakterisieren⁵⁷⁾. Die Analyse des Esters passte auf die Formel $C_{25}H_{40}O_6$ oder $C_{26}H_{42}O_6$ ⁵⁸⁾. Die krist. Säure ist somit aus Tetrahydro-marinobufagin $C_{24}H_{36}O_5$ durch Hydrolyse oder Äthanololyse entstanden, wobei nach Öffnung des Lactonringes vermutlich noch eine Isomerisierung stattgefunden hat, welche die Rückbildung des Lactonringes verhindert. Zur Abklärung der Verwandtschaft zwischen Bufotalinin und Marinobufagin war aber die Kenntnis der genauen Struktur der hier erhaltenen Säure nicht erforderlich.

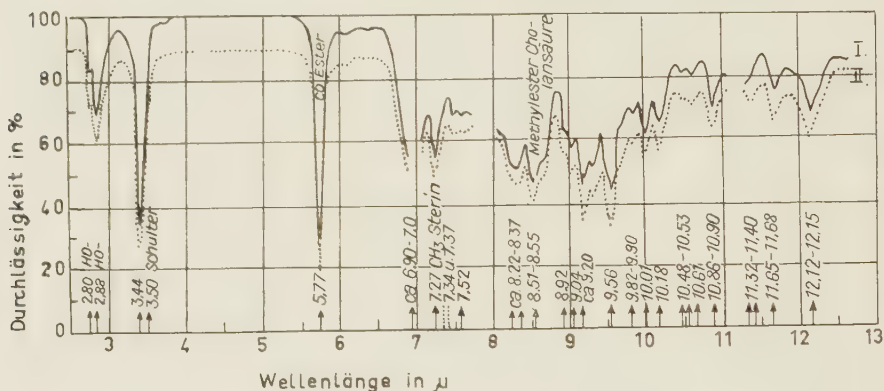


Fig. 6.

IR.-Absorptionsspektrum des Esters XVI in Dichlormethan⁵²⁾.

Kurve I = Präparat aus Bufotalinin.

Kurve II = um 10% nach unten verschoben = Präparat aus Marinobufagin.

Wir haben daher eine Probe (117 mg) 3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-bufotalinin (XI) unter genau gleichen Bedingungen nach Wolff-Kishner reduziert. Das nach Ansäuern erhaltene Rohprodukt lieferte bei der Trennung 48% saure Anteile und 32% Lactone. Aus den ersten konnte wiederum knapp die Hälfte in Form einer krist. Säure gefasst werden, die nach Smp. und Mischprobe mit der Säure XV aus Marinobufagin identisch war. Methylierung mit Diazomethan gab wieder einen krist. Methylester, der nach Smp., Mischprobe und IR.-Spektrum (vgl. Fig. 6) mit dem Ester XVI aus Marinobufagin identisch war.

⁵⁷⁾ Beim Versuch, den Methylester noch weiter durch ein O-Acetyl-Derivat zu charakterisieren, wurde nur amorphes Material erhalten.

⁵⁸⁾ Für eine Alkoxybestimmung reichte die Menge leider nicht mehr aus. Falls die Säure durch Äthanololyse entstanden ist, sollte der Methylester die Formel $C_{27}H_{44}O_6$ mit zwei Alkoxygruppen besitzen, die vorläufig nicht sicher ausgeschlossen werden kann. Falls der Methylester die Formel $C_{25}H_{40}O_6$ besitzt, so wäre daran zu denken, dass sich unter Beteiligung der 14,15-Epoxy-Gruppe ein neuer Oxydring zwischen C-21 und C-15 gebildet haben kann. Dann müsste aber vermutlich auch noch Isomerisierung an C-17 erfolgt sein, die schwer zu deuten ist.

Die amorphen neutralen Anteile wurden im Papierchromatogramm untersucht (Nr. 1 in Fig. 5). Sie gaben dabei 5 genau gleiche Flecke wie das Material aus Marinobufagin. Eine Probe wurde wieder acetyliert. Das acetylierte Gemisch gab im Papierchromatogramm wiederum 5 genau gleiche Flecke wie das analog acetylierte Lactongemisch aus Marinobufagin.

Die obigen Resultate machen es sehr wahrscheinlich, dass die genannte Annahme zu Recht besteht, dass also Bufotalinin ein 19-Oxo-Derivat des Marinobufagins darstellt. Die genaue Stellung der Aldehydgruppe konnte schliesslich noch durch Vergleich der Rotationsdispersion von 3-O-Acetyl-tetrahydro-bufotalinin (V) mit derjenigen von 3-O-Acetyl-tetrahydro-hellebrigenin (VI) und von 3β ,20-Di-N-dimethylamino-18-oxo-pregnen-(5)⁵⁹ (einem

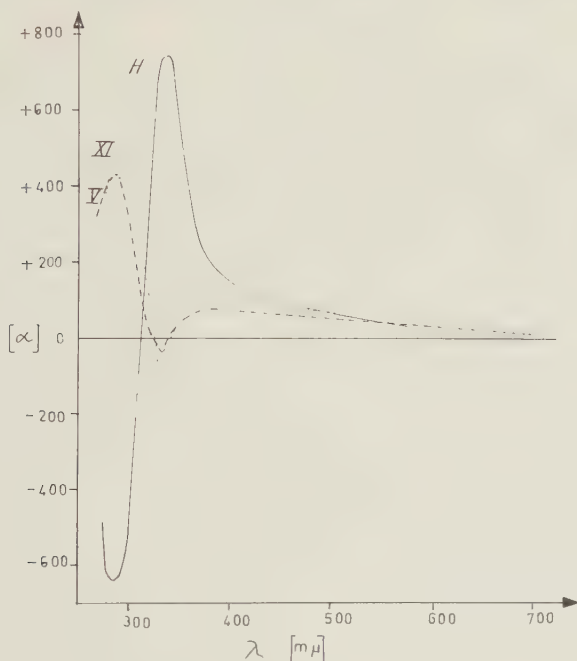


Fig. 7.

Rotationsdispersionskurven im UV.⁶⁰).

Kurve V (gestrichelt) = 3-O-Acetyl-tetrahydro-hellebrigenin (V)
c = 0,100 in Dioxan

Kurve XI (punktirt) = 3-O-Acetyl-tetrahydro-bufotalinin (XI)
c = 0,094 in Dioxan

Kurve H (ausgezogen) = 3β ,20-Di-N-dimethylamino-18-oxo-pregnen-(5)⁵⁹
c = 0,093 in Dioxan

⁵⁹ V. Černý & F. Šorm, Chem. Listy **49**, 909 (1955) sowie Coll. czechoslov. chem. Commun. **20**, 1473 (1955).

⁶⁰ Wir danken Frau V. Halpern und Herrn Prof. C. Djerassi, Detroit, auch hier bestens für die Aufnahme und die Überlassung der Messkurven. Vgl. auch C. Djerassi, O. Halpern, V. Halpern, O. Schindler & Ch. Tamm, Helv. **41**, 250 (1958).

Oxydationsprodukt aus Holarrhimin, das eine Carbonylgruppe an C-18 trägt) weiter gestützt werden. Die drei in Fig. 7 wiedergegebenen Kurven wurden uns von Herrn Prof. *Djerassi*⁶⁰⁾ zur Verfügung gestellt. Wie daraus ersichtlich, zeigt V einen genau gleichen Kurvenverlauf wie VI, während der Stoff aus Holarrhimin mit Aldehydgruppe an C-13 einen umgekehrten Verlauf aufweist. Herr Prof. *Djerassi* macht aber ausdrücklich darauf aufmerksam, dass Kurve H vorläufig nur für ein 18-Oxo-Derivat der normalen (14 α -) Reihe charakteristisch ist, und dass 18-Oxo-Derivate von 14 β -Steroiden möglicherweise eine ganz andere Kurve ergeben könnten.

Wir danken dem *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für die Unterstützung dieser Arbeit; ferner dankt der eine von uns (*H. Sch.*) dem *Research Grant Committee der Eli Lilly & Co.*, Indianapolis, für einen Beitrag.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnahmen in Chf (oder einem anderen Lösungsmittel, wenn erwähnt), Waschen mit 2-n. HCl, 2-n. Sodalösung und W, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum. Adsorptionschromatographie nach dem Durchlaufverfahren⁶¹⁾ an alkalifreiem Al₂O₃⁶²⁾ oder Silikatgemisch⁶³⁾, Verteilungschromatographie⁶⁴⁾ und Papierchromatographie⁶⁵⁾ nach früheren Angaben. Substanzproben zur Drehungsbestimmung wurden 1 Std. bei 60–70° und 0,02 Torr getrocknet, zur Analyse immer bei 0,01 Torr über P₂O₅ und, wo nichts anderes erwähnt, 5 Std. bei 100°. Alle Verhältniszahlen bei Lösungsmitteln, z. B. – (1:3) bedeuten das Verhältnis der Volumina. Zur Bezeichnung dienen die folgenden Abkürzungen: Ae = Diäthyläther, Al = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Fmd = entsäuertes Formamid⁶⁶⁾, Me = Methanol, Pgl = Propylenglykol, Pe = Petroläther Sdp. 45–55°, Pn = Pentan, Py = Pyridin, W = Wasser.

Trennung des Sekretes aus Bufo bufo bufo (L.). 95 g trockenes Sekret wurden in 3 Portionen nach dem früher beschriebenen Verfahren⁴⁾ getrennt. Die erste grobe Verteilung (in 3 Portionen ausgeführt) gab insgesamt 24,78 g (26%) Chf-Extr. und 10,763 g (11,3%) Chf-Bu-Extr. Letzterer enthält vorwiegend die Toxine (nicht weiter untersucht).

Um zu prüfen, ob in der verbliebenen wässrigen Phase noch Basen enthalten waren, wurden alle 3 Säulen anschliessend mit heissem Methanol extrahiert. Die im Vakuum eingeeengten Auszüge hinterliessen eine schleimige dunkelbraune Lösung. Fichtenspanreaktion auf Indolbasen: positiv (stark violett). Eine Probe (ca. 1/5 der ganzen Menge) wurde alkalisiert und mit Äther ausgeschüttelt. Der erhaltene Extrakt (ca. 100 mg) lieferte mit Pikrinsäure nur ca. 10 mg eines roten Pikrats, Smp. 172–175°, möglicherweise handelte es sich um Bufoteninpikrat, das bei 177–178° schmilzt⁶⁷⁾. Weiter versuchten wir die Basen mit Hilfe eines sauren Ionenaustauschers (Amberlite IR 120) aus der wässrigen Lösung zu isolieren, konnten aber auch keine grösseren Mengen fassen. Die genannte Aufarbeitung ist somit zwar zur Gewinnung der Steroide sehr gut brauchbar, aber zur Isolierung der Basen ungeeignet⁶⁸⁾.

⁶¹⁾ T. Reichstein & C. W. Shoppee, Disc. Farad. Soc. Nr. 7, 305 (1949).

⁶²⁾ Bereitet nach J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. 27, 1292. Fussnote 2 (1944), aber nur bei 180–190° reaktiviert.

⁶³⁾ W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. 35, 434 (1952).

⁶⁴⁾ H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. 36, 357 (1953).

⁶⁵⁾ R. Bernasconi, H. P. Sigg & T. Reichstein, Helv. 38, 1767 (1955).

⁶⁶⁾ O. Schindler & T. Reichstein, Helv. 34, 108 (1951).

⁶⁷⁾ H. Wieland, W. Konz & H. Mittasch, Liebigs Ann. Chem. 513, 1 (1934).

⁶⁸⁾ Es ist möglich, dass sie durch Luftoxydation zerstört waren.

Zur Trennung des Chf-Extr. wurde das Material (24,78 g) zunächst wieder⁴⁾ in 3 Portionen an Al_2O_3 chromatographiert. Dabei konnte das Gemisch der Sterine abgetrennt, sowie das Bufotalin und das Marinobufagin und ein Teil des Hellebrigenins in reiner Form isoliert werden. Alle Fraktionen, die nach Papierchromatogramm noch Gemische enthielten, wurden vereinigt (5,848 g) und wieder einer sorgfältigen Verteilungschromatographie in der früher beschriebenen Weise⁴⁾ unterworfen. Damit gelang die vollständige Trennung aller Genine. Aus den 95 g Sekret wurden in reinen Kristallen, die auch im Papierchromatogramm nur einen Fleck gaben, die folgenden Ausbeuten erhalten:

0,510 g (0,53%)	Bufotalinin
0,293 g (0,31%)	Telocinobufagin
0,554 g (0,58%)	Hellebrigenin
4,290 g (4,50%)	Bufotalin
1,434 g (1,50%)	Marinobufagin

Ausserdem gaben die leichtest eluierbaren Teile 0,313 g (0,33%) krist. Steringemisch. Von den 5 Geninen wurde jeweils ein Teil mit Acetanhydrid in Py (48 Std. bei 35°) acetyliert. In allen Fällen wurden die bekannten krist. 3-O-Acetyl-Derivate in ausgezeichneter Ausbeute erhalten.

3-O-Acetyl-strophanthidin-propylen-mercaptopal (analog XVIII, aber mit 6-Ring). 100 mg 3-O-Acetyl-strophanthidin (Smp. 246–248°) wurden mit 0,1 ml Propandithiol-(1:3) und 1 ml mit trockenem HCl-Gas gesättigtem abs. Chf⁶⁹⁾ versetzt und 15 Std. bei 20° stehen gelassen. Waschen mit Sodalösung bei 0° und zusätzliches Ausschütteln der wässrigen Phase mit Chf-Al-(10:1) gab 126 mg neutrales Rohprodukt. Es wurde an 4 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Pe-Be eluierten Anteile enthielten überschüssiges Propandithiol. Die mit Be-Chf und reinem Chf eluierten Anteile gaben 117 mg rohes Mercaptopal als hellgelben Schaum. S-Probe: positiv; *Kedde*-Reaktion: positiv. Das Präparat konnte bisher nicht kristallisiert werden.

3-O-Acetyl-periplogenin aus obigem Mercaptopal. 250 mg Raney-Nickel⁷⁰⁾ wurden 1 Std. mit 3 ml An unter Rückfluss gekocht⁷¹⁾. Dann wurden 64 mg von obigem Mercaptopal zugegeben und noch 1½ Std. gekocht. Es wurde filtriert und mit Chf nachgewaschen. Die eingedampften Filtrate hinterliessen 41 mg farblosen Rückstand. *Kedde*-Reaktion: positiv. Es wurde an 1 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Be-Chf-(1:1) und -(2:3) eluierten Anteile (9 mg) gaben aus An-Ae 4 mg krist. 3-O-Acetyl-periplogenin, Smp. 226–234°; Misch-Smp. mit authentischem Material ebenso.

Ein Umsetzungsversuch von Strophanthidin mit o-Xylylen-dimercaptan³⁷⁾⁷²⁾ unter gleichen Bedingungen wie mit Propandithiol gab nur Strophanthidin zurück.

Hydrierungen⁷³⁾. – *3-O-Acetyl-20ξ-tetrahydro-hellebrigenin (V)*. 312 mg 3-O-Acetyl-hellebrigenin (Smp. 234–245°) wurden in 25 ml Feinsprit gelöst und mit 300 mg 10-proz. Pd-Kohle in H_2 -Atmosphäre geschüttelt. Die Gasaufnahme⁷³⁾ (43,5 ml bei 20° und 735 Torr, für 2 Mol. ber. 34 ml) war nach 2 Std. beendet. Es wurde filtriert und mit Chf gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden eingedampft. Der Rückstand (331 mg) wurde in Chf-Ae-(1:3) gelöst und bei 0° mehrmals mit 2-n. Sodalösung und W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet. Eindampfen im Vakuum gab 310 mg rohes Neutralprodukt. Die vereinigten Sodalösungen und Waschwässer wurden mit HCl bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Die mit W gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 21 mg amorphe saure Anteile (nicht untersucht).

⁶⁹⁾ Käufliches Chf unmittelbar vor Gebrauch mehrmals bei 20° mit konz. H_2SO_4 geschüttelt, dann mit W und Sodalösung gewaschen, mit K_2CO_3 kurz getrocknet und destilliert. Dann wurde bei 20° trockenes HCl-Gas bis zur Sättigung eingeleitet.

⁷⁰⁾ Bereitet nach Organic Syntheses **21**, 15.

⁷¹⁾ G. B. Spero, A. V. McIntosh jr., R. H. Levin, J. Amer. chem. Soc. **70**, 1907 (1948).

⁷²⁾ Hergestellt nach Organic Syntheses **34**, 100. Smp. 168–171°.

⁷³⁾ Der Katalysator wurde nicht vorhydriert und die Gasaufnahme nur ungefähr gemessen. Es wurde immer so lange geschüttelt bis die Gasaufnahme völlig beendet war.

Die 310 mg rohes Neutralprodukt gaben aus An-Ae 233 mg farblose dünne Prismen, Smp. 178–184°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren Smp. 177–180°, $[\alpha]_D^{22} = +42,7^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,629$ in Chf). Trocknung zur Analyse (5 Std. bei 110°) gab 0,91% Gewichtsverlust.

$C_{26}H_{38}O_7$ (462,55) Ber. C 67,51 H 8,28% Gef. C 67,65 H 8,29%

UV.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 1; IR.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 2; Rotationsdispersion vgl. Fig. 7.

3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-telocinobufagin (VI). 86 mg 3-O-Acetyl-telocinobufagin (IV) vom Smp. 263–272° wurden in 20 ml Feinsprit mit 90 mg 10-proz. Pd-Kohle wie oben hydriert. Das Rohprodukt (88 mg) lieferte 5 mg saure und 82 mg neutrale Anteile. Erstere gaben keine Kristalle und wurden nicht weiter untersucht. Die neutralen Teile gaben aus An-Ae 47 mg farblose Nadeln, Smp. 204–218°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus An-Ae Smp. 213–228°, $[\alpha]_D^{22} = +32,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,172$ in Chf). Trocknung gab 0,66% Gewichtsverlust.

$C_{26}H_{40}O_6$ (448,58) Ber. C 69,61 H 8,99% Gef. C 69,43 H 9,03%

Im Papierchromatogramm (System und Ausführung wie in Fig. 5) wurde mit 0,1 mg dieses Präparats nur ein Fleck erhalten.

20 ξ -Tetrahydro-marinobufagin (XII) (vermutlich identisch mit α -«Hexahydro-marino-bufagin» von Jensen¹⁹) sowie mit dem Isomeren a von Pataki & Meyer⁸). 112 mg Marino-bufagin (IX) vom Smp. 214–217° wurden in 12 ml Al mit 100 mg 10-proz. Pd-Kohle wie oben hydriert (3 Std.). Die Aufarbeitung gab 1 mg saure und 110 mg neutrale Anteile. Letzere lieferten aus An-Ae 52 mg farblose dünne Prismen, Smp. 207–221°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren, Smp. 212–222°, Spuren bis 240°, $[\alpha]_D^{19} = +39,7 \pm 1^\circ$ ($c = 2,452$ in Chf).

3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-marinobufagin (XIII) (entspr. dem obigen Isomeren). – a) *Durch Hydrierung von X*. 242 mg 3-O-Acetyl-marinobufagin (X) vom Smp. 209–218° wurden in 30 ml reinem Al mit 250 mg 10-proz. Pd-Kohle wie oben hydriert (3 Std.). Die Aufarbeitung gab 233 mg neutrale und 36 mg saure Anteile. Letztere kristallisierten nicht. Die neutralen Anteile gaben aus An-Ae 181 mg farblose dünne Prismen, Smp. 186–201°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus An-Ae Smp. 194–201°, $[\alpha]_D^{23} = +47,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,395$ in Chf). Trocknung (5 Std., 120°) gab 7,03% Gewichtsverlust. (Analoge Trocknung bei 110° gab nur 0,72% Gewichtsverlust und ca. 1% zu tiefen C-Wert).

$C_{26}H_{38}O_6$ (446,56) Ber. C 69,93 H 8,58% Gef. C 69,76 H 8,73%

Das Präparat gab im Papierchromatogramm (System und Ausführung wie in Fig. 5) einen starken Hauptfleck und einen sehr schwachen, langsamer laufenden Fleck (entspr. einer Spur Verunreinigung). IR.-Spektrum vgl. Fig. 4.

b) *Durch Acetylierung von XII*. 5 mg 20 ξ -Tetrahydro-marinobufagin (XII, obiges Präparat vom Smp. 212–222°, $[\alpha]_D^{19} = +39,7^\circ$ ($c = 2,452$ in Chf)) wurden mit 0,5 ml abs. Py und 0,3 ml Acetanhydrid 48 Std. auf 35° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 6,5 mg Rohprodukt. Aus An-Ae 4 mg dünne Prismen, Smp. 192–200°. Die Mischprobe mit dem nach a) bereiteten Präparat schmolz gleich.

3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-bufotalinin (XI). 151 mg 3-O-Acetyl-bufotalinin (VIII) vom Smp. 243–249° wurden in 35 ml Feinsprit mit 150 mg 10-proz. Pd-Kohle wie oben hydriert (2 Std.). Die Aufarbeitung lieferte 1 mg saure und 154 mg neutrale Anteile. Letztere gaben aus An-Ae 121 mg farblose, zu Drusen vereinigte Prismen, Smp. 210–220° (Zers.). Nach mehrmaligem Umkristallisieren Smp. 192–220° (Zers.); $[\alpha]_D^{24} = +49,4^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,548$ in Chf).

$C_{26}H_{36}O_7$ (460,54) Ber. C 67,80 H 7,88% Gef. C 68,12 H 8,21%

UV.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 1; IR.-Absorptionsspektren vgl. Fig. 3; Rotationsdispersion vgl. Fig. 7). Im Papierchromatogramm (System und Ausführung wie in Fig. 5) gaben 0,1 mg dieses Präparates nur einen starken Fleck und einen sehr schwachen, langsam laufenden Fleck, entsprechend einer Spur Verunreinigung.

Wolff-Kishner-Reduktionen. – *Reduktion von 3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-hellebrigenin (3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-bufotalidin) (V).* 50 mg dieses Stoffes vom Smp. 176–182° wurden mit 130 mg Hydrazinhydrat und einer Lösung von 55 mg Natrium in 2,2 ml abs. Al im Vakuum in ein Bombenrohr eingeschmolzen und 14 Std. auf 140° erhitzt. Dann wurde der Alkohol im Vakuum entfernt, der Rückstand in 10 ml W gelöst und dreimal mit je 10 ml Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Die über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen nur 1 mg Rückstand (Neutralstoffe, verworfen).

Die wässrige Phase und die Waschwässer wurden vereinigt, mit HCl auf pH 1 gebracht und 15 Min. bei 20° stehengelassen. Dann wurde dreimal mit je 15 ml Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Diese Auszüge wurden im Gegenstrom bei 0° zweimal mit je 5 ml 2-n. Sodalösung und einmal mit 5 ml W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (Lactone) wog 36 mg.

Die Sodalösungen und Waschwässer wurden vereinigt, bei 20° mit HCl auf pH 1 gebracht und mehrmals mit Chf ausgeschüttelt. Die mit W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Chf-Auszüge gaben beim Eindampfen 6 mg saure Anteile. Diese gaben keine Kristalle und wurden in diesem Fall nicht weiter untersucht.

Die 36 mg rohe Lactone wurden mit 0,5 ml abs. Py und 0,3 ml Acetanhydrid 48 Std. auf 35° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae-(1:3) gab 32 mg neutrales Rohprodukt. Umkristallisieren aus An-Ae gab 24 mg 3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-telocinobufagin (VI) in farblosen langen Prismen, Smp. 207–218°. Nach Umkristallisieren Smp. 214–228°, $[\alpha]_D^{22} = +40,3 \pm 2^\circ$ ($c = 1,310$ in Chf). Trocknung (5 Std., 110°) gab 0,89% Gewichtsverlust.

C₂₆H₄₀O₆ (448,58) Ber. C 69,61 H 8,99% Gef. C 69,70 H 9,22%

UV.-Absorptionsspektren vgl. Fig. 1. Die Mischprobe mit dem durch Hydrierung von 3-O-Acetyl-telocinobufagin bereiteten Präparat schmolz gleich. Auch im Papierchromatogramm (System und Ausführung wie in Fig. 5) gaben beide Präparate nur einen Fleck mit genau gleicher Laufstrecke. Die Mutterlaugen der Kristalle gaben im Papierchromatogramm denselben Hauptfleck, daneben noch einen schwachen Fleck mit kürzerer Laufstrecke.

Verhalten von 3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-marinobufagin (XIII) unter den Bedingungen der Wolff-Kishner-Reduktion. 164 mg 3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-marinobufagin (XIII) wurden wie oben behandelt. Sie gaben nur Spuren von Neutralstoffen (verworfen), hingegen 34 mg Lactone und 70 mg saure Anteile.

Die Lactone zeigten im Papierchromatogramm (Nr. 2 in Fig. 5) fünf Flecke, von denen die 2 raschesten am stärksten waren. 29 mg dieses Gemisches wurden auf 10 Papierblättern (je 19 cm breit, Whatman Nr. 1) präparativ getrennt⁵⁴⁾. Zur Identifizierung wurde am Rand je 0,5 cm abgeschnitten und mit H₃PO₄ entwickelt⁵⁶⁾. Die ausgeschnittenen Zonen wurden mit Me eluiert. Der Extrakt wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit W versetzt und mit Chf ausgeschüttelt. Die mit W gewaschenen Chf-Lösungen wurden eingedampft.

Die am raschesten wandernde Zone gab papierchromatographisch einheitliches Material, das aber nicht kristallisierte. Nach Versuch zur Reinigung an Silicagel wurde gar kein papierchromatographisch nachweisbares Material mehr eluiert.

Die zweitrascheste Zone gab Material, das neben dem Hauptfleck noch Spuren weiterer Stoffe enthielt. Auch dieses Material gab keine Kristalle.

Die Acetylierung einer Probe des Lactongemisches gab ein acetyliertes Gemisch, das im Papierchromatogramm ebenfalls 5 Flecke zeigte. Kristalle konnten daraus nicht erhalten werden.

Die 70 mg sauren Anteile gaben aus An-Ae 29 mg krist. Säure XV, Smp. 250–256°. Nach Umkristallisieren aus Me-Ae, Smp. 259–266°, $[\alpha]_D^{25} = -17,2 \pm 4^\circ$ ($c = 0,548$ in Me).

Methylester XVI. 28 mg der Säure XV (aus Marinobufagin) vom Smp. 250–256° wurden in 0,1 ml Me und 2 ml Chf gelöst, mit ätherischer Diazomethanolösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt und 15 Min. bei 20° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae-(1:3) gab nur Spuren saure Anteile und 29 mg neutralen Rückstand. Letzterer gab aus An-Pn 21 mg farblose, zu Drusen vereinigte Spiesse vom Smp. 169–177°. Nach

Umkristallisieren Smp. 174–180°, $[\alpha]_D^{23} = -4,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,715$ in Chf). Trocknung zur Analyse 3 Std. bei 100°/0,01 Torr.

$C_{25}H_{40}O_6$ (436,57)	Ber. C 68,77	H 9,24	O 21,99%
$C_{26}H_{42}O_6$ (450,60)	Ber. „ 69,30	„ 9,40	„ 21,30%
	Gef. „ 69,01	„ 9,67	„ 21,77%

Acetylierung von XVI. 6 mg Methylester XVI vom Smp. 174–180° wurden mit je 0,1 ml abs. Py und Acetanhydrid 48 Std. auf 35° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae-(1:3) gab 10 mg rohes Neutralprodukt. Zur Reinigung wurde durch wenig Al_2O_3 filtriert. Das Material gab bisher keine Kristalle.

Reduktion von 3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-bufotalinin (XI). 49 mg 3-O-Acetyl-20 ξ -tetrahydro-bufotalinin (XI) vom Smp. 192–220° wurden wie oben behandelt. Sie gaben nur Spuren neutrales Material, aber 13 mg Lactone und 15 mg saure Anteile. Eine Wiederholung mit 68 mg XI gab noch 22 mg Lactone und 33 mg rohe Säure.

Das Lactongemisch gab im Papierchromatogramm (Nr. 1 in Fig. 5) fünf Flecke, die genau denjenigen entsprachen, die das Lactongemisch aus XIII zeigte (Nr. 2 in Fig. 5). Eine Probe wurde acetyliert. Das erhaltene rohe Acetat gab im Papierchromatogramm wiederum 5 Flecke, die wieder denjenigen des acetylierten Lactongemisches aus XIII entsprachen.

Die vereinigten sauren Anteile (48 mg) gaben aus An-Ae 19 mg krist. Säure in farblosen Prismen, Smp. 247–255°. Die Mischprobe mit der Säure XV aus Marinobufagin schmolz gleich.

Methylester. 12 mg der obigen Säure vom Smp. 247–255° wurden wieder mit Diazomethan methyliert. Das neutrale Rohprodukt (13 mg) gab aus An-Pn 6 mg Kristalle, Smp. 171–177°. Nach Umkristallisieren Smp. 174–180°. Die Mischprobe mit dem Ester XVI aus Marinobufagin schmolz gleich, auch die IR.-Spektren waren gleich (Fig. 6).

Die Mikroanalysen wurden unter der Leitung von Herrn E. Thommen im Mikrolabor des Instituts ausgeführt.

Zusammenfassung.

Tetrahydro-hellebrigenin (= Tetrahydro-bufotalidin) gab nach Erhitzen mit Hydrazin und Na-Äthylat in ca. 50% Ausbeute Tetrahydro-telocinobufagin. Gleiche Behandlung von 3-O-Acetyl-tetrahydro-marinobufagin lieferte ein amorphes Gemisch von Neutralstoffen, das im Papierchromatogramm 5 Flecke gab, sowie eine krist. Säure, die als krist. Methylester charakterisiert wurde. Dieselben Produkte wurden in ganz ähnlicher Ausbeute auch beim Erhitzen von 3-O-Acetyl-tetrahydro-bufotalinin mit Hydrazin und Na-Äthylat erhalten. Dieses Resultat ist eine sehr starke Stütze für die Hypothese, dass Bufotalinin ein 19-Oxo-Derivat des Marinobufagins darstellt. Aus dem Verlauf der Rotationsdispersion folgt, dass die Aldehydgruppe sich vermutlich an C-10 befindet, falls Bufotalinin das normale Bufadienolid-Gerüst enthält, was allerdings noch nicht bewiesen ist.

Curriculum vitae

Am 18. November 1930 wurde ich, HERBERT REINHARD SCHRÖTER als Sohn des Kaufmannes Georg Schröter und der Margarethe geb. Rellin in Nürnberg geboren.

Die Volksschule besuchte ich in den Jahren 1937–1941 in Berlin. Im Herbst 1941 trat ich in die städtische Oberschule, Berlin-Lichtenberg ein. Während der Kriegsjahre konnte ich den Schulbesuch mit geringen Unterbrechungen an der Oberschule in Lauban, Schlesien und am Gymnasium in Husum, Schleswig-Holstein fortsetzen. Die Maturitätsprüfung bestand ich im Sommer 1949 an der Franz-Mehring-Schule in Berlin-Lichtenberg.

Nach der Maturitätsprüfung war ich ein Jahr lang als Praktikant im chemischen Labor der Firma Osram, Berlin, tätig.

Im Wintersemester 1950/51 immatrikulierte ich mich an der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel um Chemie zu studieren. Als Nebenfächer wählte ich Mineralogie, physikalische Chemie und Nationalökonomie. Im Mai 1955 begann ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. T. Reichstein und unter der Assistenz von Herrn PD. Dr. Ch. Tamm mit der vorliegenden Dissertation.

Während meines Studiums habe ich bei folgenden Dozenten Vorlesungen und Praktika besucht:

M. Brenner, P. Buchner, H. Dahn, H. Erlenmeyer, M. Geiger-Huber, C. Grob, P. Huber, H. Kuhn, W. Kuhn, E. Miescher, J. Niehans, T. Reichstein, M. Reinhard, E. Salin, A. Speiser, J. E. Staehelin, Ch. Tamm, V. F. Wagner, E. Wenk, R. Wizinger.

